

Il testicolo del paziente Klinefelter

La sindrome di Klinefelter (SK) costituisce l'aneuploidia dei cromosomi sessuali più frequente (1:600 nati), ed è definita da un quadro di ipogonadismo ipergonadotropo, ovvero da bassi livelli di testosterone associati ad elevati livelli di gonadotropine [1]. Per definizione la SK è caratterizzata da una testicolopatia primitiva con conseguenti anomalie morfologiche e funzionali. La testicolopatia può essere inoltre peggiorata dal concomitante criptorchidismo, che ha una frequenza 6 volte maggiore nei pazienti con SK [1].

- **Aspetti istologici**

Alla palpazione i testicoli del paziente con SK presentano in genere volumi marcatamente ridotti (< 4 ml) e di consistenza aumentata. E' possibile tuttavia, in rari casi, osservare un range volumetrico più ampio (fino a 8 ml), come ad esempio nei casi di mosaicismo [2]. Tale riscontro clinico si associa istologicamente a fibroialinosi dei tubuli seminiferi, con assenza di spermatozoi ed iperplasia relativa delle cellule di Leydig, che si raggruppano in clusters e possono formare micronoduli [3]. E' possibile anche rilevare rari foci di spermatogenesi con arresto maturativo allo stadio di spermatocita primario (pachitene), e foci di spermatogenesi normale [1].

Sebbene il ridotto volume testicolare è evidenziabile soltanto a partire dalla pubertà, è stato dimostrato che le alterazioni istologiche del testicolo del paziente con SK sono rilevabili già in epoca fetale, durante la quale si evidenziano tubuli seminiferi sprovvisti di cellule germinali e cellule germinali in fase di degenerazione [4]. Il numero di spermatogoni si riduce progressivamente nel corso del tempo, e soltanto in un bambino su due è possibile rilevare cellule germinali. Alla pubertà, gli spermatogoni rimasti vanno incontro ad apoptosi invece che iniziare la meiosi [4]. In età adulta, i pazienti con fenotipo classico sono azoospermici ed il riscontro di spermatozoi mobili nell'eiaculato è raro, mentre i mosaici (47,XXY/46,XY) possono presentare un quadro seminale subnormale variabile.

Negli ultimi anni è cresciuto il numero di pazienti con SK che hanno fatto ricorso a fecondazione assistita (ICSI) dopo estrazione degli spermatozoi dal testicolo (TESE o micro-TESE) a partire da foci di spermatogenesi conservata [4]. La probabilità di trovare spermatozoi mobili con queste metodiche è di circa 50% [5]. La terapia sostitutiva con testosterone va sospesa almeno 3-6 mesi prima della prevista TESE/micro-TESE a seconda dello steroide utilizzato [1]. E' bene però ricordare che la biopsia di un testicolo di volume molto ridotto può causare ulteriore perdita di cellule di Leydig e riduzione temporanea o permanente dei livelli di testosterone [1].

- **Aspetti ecografici**

Ecograficamente i testicoli sono di volume ridotto, ed hanno un'ecostruttura diffusamente disomogenea [6]. Tale disomogeneità, che è meno evidente in età adolescenziale, risulta dall'alternanza di aree ipoecogene costituite da iperplasia delle cellule di Leydig, aree iperecogene costituite da tralci di fibrosi e ialinosi dei tubuli, e spots iperecogeni costituiti da calcificazioni, soprattutto microscopiche (microlitiasi), riscontrabili in un paziente su tre. Da notare che le aree di iperplasia leydigiana, che si riscontrano nel 30-60% dei pazienti, appaiono generalmente come aree ipoecogene pseudonodulari a margini sfumati [6,7]. Infine, la vascolarizzazione testicolare nei pazienti con SK è aumentata in più di metà dei casi [7].

- **Aspetti oncologici**

Sebbene i pazienti con SK siano considerati a rischio di sviluppare neoplasie testicolari, in realtà in letteratura i tumori testicolari sono stati descritti soltanto sporadicamente in tali pazienti [6]. In uno studio di registro danese è stato riportato un solo caso di cancro del testicolo a fronte di 1.75 casi attesi [8]. Al contrario, il rischio di sviluppare tumori a cellule germinali a sede extratesticolare, in particolare nel mediastino, è aumentata [8]. In caso di nodulo testicolare sospetto è indicato il dosaggio di alfa-feto proteina, lattato deidrogenasi e subunità β della gonadotropina corionica [9], mentre la risonanza magnetica nucleare è utilizzata per discriminare le neoplasie benigne da quelle maligne, evitando inutili orchietomie [6].

Tuttavia, è bene ricordare che i noduli testicolari nei pazienti con SK possono essere tumori benigni a celle di Leydig o iperplasia delle cellule di Leydig, causati dall'esposizione cronica ad elevati livelli di LH [7]. La multifocalità e la frequente bilateralità, associate a negatività dei markers tumorali, orientano verso l'iperplasia delle cellule del Leydig, anche se la diagnosi differenziale con le neoplasie testicolari può essere difficoltosa anche dopo esecuzione della risonanza magnetica nucleare, e la conferma è soltanto istologica [10].

Nel complesso, la presenza di disgenesia testicolare con ipergonadotropinemia ed eventualmente il criptorchidismo non sono sufficienti a determinare un aumento del rischio di tumori testicolari nel paziente con SK. Cionondimeno, è consigliata l'esecuzione annuale dell'ecografia testicolare [6].

- **Aspetti ormonali**

Dal punto di vista ormonale, l'alterata funzione testicolare riguarda sia la componente leydigiana che quella sertoliana. Sebbene alla nascita non vi siano differenze in termini di concentrazioni di testosterone e gonadotropine tra neonati con SK e neonati sani, il rialzo del

testosterone dopo circa 3 mesi dalla nascita (mini-pubertà), è inferiore alla media nei neonati con SK [1,6]. Alla pubertà, il volume testicolare ed i livelli di testosterone aumentano inizialmente, ma raggiungono un plateau e si mantengono nella parte bassa della norma per tutta la pubertà. Parallelamente aumentano FSH (prima ed in misura maggiore) ed LH (dopo) [4].

L'alterata funzione leydigiana del paziente con SK è dimostrata anche dai ridotti livelli sierici del fattore-3 insulino-simile (insulin-like factor 3, INSL3). INSL3 è un ormone peptidico che oltre ad avere un ruolo nella corretta discesa del testicolo, è fondamentale per il metabolismo osseo, stimolando la proliferazione degli osteoblasti attraverso la via della MAP-kinasi [11]. Dopo un primo incremento di INSL3 nella fase iniziale della pubertà, le cellule di Leydig del paziente con SK producono il 70% in meno di INSL3 rispetto ad un testicolo sano, malgrado la stimolazione da parte dell'LH [12]. Al contrario, l'espressione dell'antigene fetale 1 (DLK1) è aumentata (soprattutto nelle cellule di Leydig distanti dai tubuli seminiferi), evidenziando l'im maturità delle cellule di Leydig [3]. In un recente studio, gli autori hanno trovato una correlazione lineare tra i livelli di INSL3, testosterone ed osteocalcina, ma soltanto nei pazienti con SK non trattati con testosterone. Ciò perché tale trattamento, riducendo i livelli di LH, sopprime quelli di INSL3 [12]. Anche i livelli di osteocalcina, un marker di neoformazione ossea prodotta dagli osteoblasti, che nella forma sotto-carbossilata stimola la steroidogenesi testicolare, risultano inferiori [13].

Le cellule di Leydig del paziente con SK producono anche meno 25-idrossilasi, con conseguente minore sintesi di 25-OH vitamina D, la quale a sua volta è importante per corretto funzionamento delle cellule di Leydig [14]. Nel complesso, la disfunzione leydigiana della SK, identificata dai ridotti livelli di 25-OH vitamina D, testosterone e INSL3, associata ai ridotti livelli di osteocalcina, al sovrappeso e all'infiammazione di basso grado, sono responsabili della ridotta mineralizzazione ossea del paziente con SK.

Negli ultimi anni è emersa anche un'alterata funzione delle cellule di Sertoli. L'ormone antimulleriano (AMH), che con INSL3 è fondamentale per la corretta discesa del testicolo dall'addome dopo la nascita, è tipicamente elevato nei pazienti d'età compresa tra 9 e 11 anni, per poi ridursi con l'inizio della pubertà, ma in ritardo rispetto ai coetanei, e rimanere al di sotto del range di normalità nell'adulto [1]. Infine, un altro ormone di sintesi sertoliana, l'inibina B, aumenta in fase prepuberale, ma risulta indosabile già da metà pubertà [15].

- **Aspetti metabolici**

Le alterazioni metaboliche testicolari si ripercuotono sulla spermatogenesi, che per diversi motivi risulta compromessa (vedi sopra) [15]. Il metabolismo testicolare dipende per lo più dall'utilizzo glucosio, il quale è veicolato dalla circolazione ematica attraverso i trasportatori

GLUT1 e GLUT3. Nel testicolo del paziente con SK vi è una prevalente espressione di GLUT3 rispetto a GLUT1. Tale variazione dell'espressione dei trasportatori del glucosio è stata dimostrata anche nei ratti con insulino-resistenza ed intolleranza ai carboidrati. Non a caso la SK si associa frequentemente a disordini del metabolismo dei carboidrati [15].

A livello intratesticolare, il glucosio è convertito in piruvato prima e lattato poi, e quest'ultimo è la principale fonte di energia per la spermatogenesi. Nel testicolo del paziente con SK la conversione piruvato-lattato è ridotta, così come lo sono i livelli di creatina, la quale oltre ad essere fonte di energia per la spermatogenesi, ha importanti azioni antiossidanti [15].

Bibliografia

1. Aksglaede L, Juul A. Testicular function and fertility in men with Klinefelter syndrome: a review. *Eur J Endocrinol.* 2013 Mar 15;168(4):R67-76.
2. Okada H, Fujioka H, Tatsumi N, Kanzaki M, Okuda Y, Fujisawa M, Hazama M, Matsumoto O, Gohji K, Arakawa S, Kamidono S. Klinefelter's syndrome in the male infertility clinic. *Hum Reprod.* 1999 Apr;14(4):946-52.
3. Lottrup G, Nielsen JE, Maroun LL, Møller LM, Yassin M, Leffers H, Skakkebaek NE, Rajpert-De Meyts E. Expression patterns of DLK1 and INSL3 identify stages of Leydig cell differentiation during normal development and in testicular pathologies, including testicular cancer and Klinefelter syndrome. *Hum Reprod.* 2014 Aug;29(8):1637-50.
4. Wikström AM, Dunkel L. Testicular function in Klinefelter syndrome. *Horm Res.* 2008;69(6):317-26.
5. Corona G, Pizzocaro A, Lanfranco F, Garolla A, Pelliccione F, Vignozzi L, Ferlin A, Foresta C, Jannini EA, Maggi M, Lenzi A, Pasquali D, Francavilla S; Klinefelter ItaliaN Group (KING). Sperm recovery and ICSI outcomes in Klinefelter syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Hum Reprod Update.* 2017 May 1;23(3):265-275.
6. Accardo G, Vallone G, Esposito D, Barbato F, Renzullo A, Conzo G, Docimo G, Esposito K, Pasquali D. Testicular parenchymal abnormalities in Klinefelter syndrome: a question of cancer? Examination of 40 consecutive patients. *Asian J Androl.* 2015 Jan-Feb;17(1):154-8.
7. Rocher L, Moya L, Correas JM, Mutuon P, Ferlicot S, Young J, Izard V, Benoit G, Brailly-Tabard S, Bellin MF. Testis ultrasound in Klinefelter syndrome infertile men: making the diagnosis and avoiding inappropriate management. *Abdom Radiol (NY).* 2016 Aug;41(8):1596-603.
8. Hasle H, Mellempgaard A, Nielsen J, Hansen J. Cancer incidence in men with Klinefelter syndrome. *Br J Cancer.* 1995 Feb;71(2):416-20.

9. Ilic D, Misso ML. Screening for testicular cancer. *Cochrane Database Syst Rev*. 2011 Feb 16;(2):CD007853.
10. Sterbis J, Enunu T. Leydig cell hyperplasia in the setting of Klinefelter syndrome. *BMJ Case Rep*. 2015;2015:bcr2015209805.
11. Ferlin A, Perilli L, Gianesello L, Tagliavoro G, Foresta C. Profiling insulin like factor 3 (INSL3) signaling in human osteoblasts. *PLoS One*. 2011;6(12):e29733.
12. Overvad S, Bay K, Bojesen A, Gravholt CH. Low INSL3 in Klinefelter syndrome is related to osteocalcin, testosterone treatment and body composition, as well as measures of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis. *Andrology*. 2014 May;2(3):421-7.
13. Stagi S, Di Tommaso M, Manoni C, Scalini P, Chiarelli F, Verrotti A, Lapi E, Giglio S, Dosa L, de Martino M. Bone Mineral Status in Children and Adolescents with Klinefelter Syndrome. *Int J Endocrinol*. 2016;2016:3032759.
14. Ferlin A, Selice R, Di Mambro A, Ghezzi M, Di Nisio A, Caretta N, Foresta C. Role of vitamin D levels and vitamin D supplementation on bone mineral density in Klinefelter syndrome. *Osteoporos Int*. 2015 Aug;26(8):2193-202.
15. Alves MG, Martins AD, Jarak I, Barros A, Silva J, Sousa M, Oliveira PF. Testicular lactate content is compromised in men with Klinefelter Syndrome. *Mol Reprod Dev*. 2016 Mar;83(3):208-16.

Autore: Roberto Vita (Messina)

Commissione Linee Guida SIAMS: Elisa Giannetta (Roma), Sandro La Vignera (Catania), Sara Marchiani (Firenze), Pier Francesco Palego (Padova)